



T.C.

**AKSARAY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***USTILAGO MAYDIS* (DC.) CORDA'DAN KİTİN İZOLASYONU VE
KARAKTERİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Aslı TOPAÇ

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Mehtap TEKŞEN

AKSARAY, 2014

T.C.

AKSARAY ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KABUL ve ONAY BELGESİ

Aslı TOPAÇ'ın **USTILAGO MAYDIS (DC.) CORDA'DAN KİTİN İZOLASYONU VE KARAKTERİZASYONU** başlıklı lisansüstü tez çalışması, aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalında **YÜKSEK LİSANS** tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Danışman : Yrd. Doç. Dr. Mehtap TEKŞEN

İkinci Danışman: Doç. Dr. Murat KAYA

Üye : Yrd. Doç. Dr. Seher KARAMAN ERKUL

Üye : Yrd. Doç. Dr. Yavuz Selim ÇAKMAK

Tezin Savunulduğu Tarih: 25.02.2014

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu' nun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Doç. Dr. Selçuk REİS
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Bu çalışmanın konusu ülkemizde değerlendirilmeyen ve birçok uygulama alanı olan kitin biyopolimerinin, mısırdaki parazit olarak yaşayan *Ustilago maydis* (DC.) Corda türünden izole edilip, karakterize edilmesidir. Bu amaçla gerçekleştirilen çalışmaların, atıkların büyük oranda insanların yararına uygulamalarda kullanımına dönüştürülmesinde yararlar sağlayacağı düşünülmektedir. Böylece atık bir üründen sentezlenip karakterize edilen kitin biyopolimeri, gelecekte gerek ülkemizde gerekse dünyada *U. maydis* türü atıklardan elde edilebilecek ve birçok uygulama alanı olan bu materyallerle bağlantılı çalışma alanları için önemli olacaktır.

Bu çalışma ile kısa vadede atık bir üründen kitin biyopolimerinin sentezlenmesi hedeflenirken, uzun vadede yenilenebilir kaynakları biyolojik metotlar kullanarak farklı fonksiyonlara sahip materyallere dönüştürmek hedeflenmiştir. Mısır tarımına zarar veren parazit mantarın atık pozisyonundan çıkarıldığı ilk çalışmadır.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam süresince çalışma konusunun seçiminde ve çalışmanın sonuçlanmasında beni yönlendiren danışman hocalarım Doç. Dr. Murat KAYA ve Yrd. Doç. Dr. Mehtap TEKŞEN'e, laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan Dr. Sevil ERDOĞAN ve Arş. Gör. Talat BARAN'a teşekkür ederim.

Hayatımın her döneminde olduğu gibi tez çalışmamda da maddi ve manevi desteğini esirgemeyen ve yanımda olan, aileme sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

Aslı TOPAÇ

AKSARAY, 2014

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa No
ÖNSÖZ	i
TEŞEKKÜR	ii
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ	1
1.1 Kitinin Başlıca Kaynakları	1
1.2 Mısırdaki Görülen Hastalık ve Zararlılar	3
2. LİTERATÜR ÖZETİ	5
3. MALZEME VE YÖNTEM	8
3.1.Malzeme	8
3.1.1 FTIR	8
3.1.2 TGA	8
3.1.3 XRD	8
3.1.4 SEM	8
3.2.Yöntem	8
3.2.1 Demineralizasyon işlemi	8
3.2.2 Deproteinizasyon işlemi	9
3.3.3 Dekolarizasyon işlemi	9
3.3.4 FTIR, TGA ve XRD teknikleri ve SEM mikrofotografı	9
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	10
4.1 FTIR	10
4.2 TGA	10
4.3 XRD	13
4.4 SEM	14
5. SONUÇLAR	18

KAYNAKLAR	21
ÖZGEÇMİŞ	25

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

USTILAGO MAYDIS (DC.) CORDA'DAN KİTİN İZOLASYONU VE KARAKTERİZASYONU

Aslı TOPAÇ

T.C.

Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman : Yrd. Doç. Dr. Mehtap TEKŞEN

İkinci Danışman : Doç. Dr. Murat KAYA

Arthropoda (Eklem bacaklılar) şubesinde vücudun dış yüzeyini örten, mantarların hücre duvarında yer alan, mercan, nematod ve diatom gibi canlıların vücut yapısına katılan kitin doğada selülozdan sonra en çok bulunan biyopolimerdir. Farklı kaynaklardan izole edilen kitin ve türevleri tıp, tarım, kozmetik, su arıtımı gibi oldukça fazla alanda kullanılmaktadır. Bu çalışmada mısır bitkisinde mısır راستığı hastalığına neden olan *Ustilago maydis* (DC.) Corda mantarından kitin izole edilmiştir. İzolasyon işleminde asitleri uzaklaştırmak için 4 M HCl ve proteinleri uzaklaştırmak amacıyla 2 M NaOH çözeltileri kullanılmıştır. *U. Maydis*'in kuru ağırlık üzerinden %11 kitin içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. İzole edilen kitin, FTIR, XRD, TGA ve SEM teknikleri ile karakterize edilmiştir. FTIR analizinde 1656 cm^{-1} , 1621 cm^{-1} ve 1557 cm^{-1} 'de gözlenen üç pik izole edilen kitinin alfa kitin karakterinde olduğunu göstermiştir. TGA analizinde 0-150°C aralığında %5.86 ve 331.7°C de %50.64 oranında iki kütle kaybının olduğu gözlenmiştir. Alfa kitinin XRD analizi sonucunda kristal indeksi %74 olarak hesaplanmıştır. SEM çekimleri ise kitinin düz bir yüzeye sahip olup, fiber ve por yapılarının bulunmadığını göstermektedir. Sonuç olarak mısır üzerinde parazit olarak yaşayan ve ekonomik açıdan oldukça zararlı olan bu canlının çok amaçlı kullanılan teknolojik bir ürüne dönüşümü sağlanmıştır. Bu çalışma ile bu parazit mantarın kitin ve türevleri için alternatif bir kaynak olarak kullanılabileceği ortaya konmuştur.

2014, 25 Sayfa

Anahtar Kelimeler: Mısır راستığı, Alfa kitin, Biyopolimer, Karakterizasyon

ABSTRACT

Master of Science Thesis

ISOLATION AND CHARACTERIZATION CHITIN FROM *USTILAGO MAYDIS*
(DC.) CORDA

Aslı TOPAÇ

T.R.

Aksaray University Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor : Asst. Prof. Dr. Mehtap TEKŞEN

Co-Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Murat KAYA

In *Arthropoda* branches covering the outer surface of the body, located in the cell walls of fungus and coral, chitin which is participating the body structure in living creatures like nematode and diatome is the most present biopolymer in nature after cellulose. Chitin and derivatives which are isolated from different sources are used in pretty much spaces such as medicine, agriculture, cosmetics, and water purification. In this study, from *Ustilago maydis* fungus which causes of disease corn smut disease in corns is chitin isolated. In isolation to remove acids 4 M HCl and in order to remove proteins 2 M NaOH solution had been used. 11% of chitin from the dry weight of *U. maydis* (DC.) Corda has determined. Isolated chitin has been characterized by FTIR, XRD, TGA and SEM techniques. In FTIR analysis at 1656 cm⁻¹, 1651 cm⁻¹ and 1557 cm⁻¹ observed three isolated chitin has shown in the character of alpha chitin. In TGA analysis, in proportion to 5.86% within the range of 0-150 °C, and in proportion to % 50.64 in the range of 331.7°C two mass loss was observed. In the XRD analysis results of alpha chitin, crystal index has been calculated as %74. SEM shots has a flat surface and illustrate that there are no structures of fiber and por. As a result, these living creature which is living as parasites on corn and economically harmful has been provided as a multi-purposed use of technological product. With this study, it has shown that parasitic fungus could be used as an alternative source of chitin and derivatives.

2014, 25 Pages

Keywords: Disease corn smut, Alpha chitin, Biopolymer, Characterization

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 4.1.1.	<i>Ustilago maydis</i> 'den elde edilen kitinin FTIR spektrumu	11
Şekil 4.2.1.	<i>U. maydis</i> 'den elde edilen kitinin TG ve DTG sonuçları	13
Şekil 4.3.1.	<i>U. maydis</i> 'den izole edilen kitinin XRD spektrum	14
Şekil 4.4.1.	<i>U. maydis</i> 'den izole edilen kitinin SEM görüntüleri (a. 5000X, b. 10000X, c. 30000X)	16
Şekil 4.4.2.	<i>U. maydis</i> 'in ışık mikroskobu görüntüleri	17

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 1.1.1. Mikroorganizmalardan bazılarının kitin içeriği (Shahidi ve Abuzaytoun, 2005)	2
Çizelge 4.1.1. <i>Ustilago maydis</i> 'den izole edilen kitinin FTIR bantları	12

SİMGELER DİZİNİ

%	Yüzde
°C	Santigrat derece
°	Derece
θ	Açısal hız

KISALTMALAR DİZİNİ

cm	Santimetre
DTG	Derivative termogravimetrik analiz
FTIR	Fourier transform infrared (Yakın infrared spektroskopi)
g	Gram
kV	Kilovolt
mA	Molekül ağırlığı
mg	Miligram
ml	Mililitre
nm	Nanometre
SEM	Scanning electron microscope (Taramalı elektron mikroskobu)
spp.	Türleri
TGA	Thermogravimetric analyzer (Termogravimetrik analiz)
vd.	Ve diğerleri
X	Büyütme
XRD	X-Ray diffraction (X-ışını difraksiyon)

1. GİRİŞ

Kitin, maya ve mantarların hücre duvarlarında, ıstakoz, yengeç ve karides gibi kabuklularda, böcek epidermisinde yer alan, doğada selülozdan sonra en yaygın bulunan biyopolimerdir (Synowiecki ve Al-khateeb, 2003; Youn vd., 2007). Kitin yenilenebilir bir kaynak ve çevre dostu biyopolimer olma özelliğinden dolayı son yıllarda dünya genelinde tıptan gıdaya, ziraatten kozmetiğe, eczacılıktan atık su arıtımına ve tekstil sektörüne kadar sayısız alanda kullanılabilmektedir. Gıda endüstrisinde stabilize edici madde ve antimikrobiyal madde olarak kullanılmaktadır (Shahidi vd., 1999). Ayrıca yaraların iyileşmesi, bağışıklık sistemini geliştirme, lipid düşürücü ve antimikrobiyal aktivite de dahil olmak üzere biyomedikal alanlarda da kullanılmaktadır (Ong vd., 2008; Aranaz vd., 2009). Gübre olarak ve meyve ile tohumu kaplayarak tarım sektöründe, deri ve saç bakım ürünlerinde katkı maddesi olarak kullanımıyla kozmetik alanında, ilaç tasarımlarında, kirlilik yaratan maddelerin uzaklaştırılması amacıyla su arıtımında gibi alanlarda da kitin kullanılmaktadır (No, 1996; Kumar, 2000; Li-Qunvu, 2002; Rinaudo, 2006).

1.1. Kitinin Başlıca Kaynakları

Dünyada kitinin başlıca kaynağını deniz kabukluları oluşturmaktadır. Kitin üretiminde en fazla kullanılan deniz kabukluları karides, yengeç ve ıstakozdur. Bu canlıların içerdikleri kitin miktarı mevsime, türe ve yaşa bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Dünyada yılda 150×10^3 ton civarında kitin üretimi yapıldığı belirtilmektedir. Bunun % 37.3'ü karidesten, %26'sı çeşitli deniz kabuklularından, %15.3'ü istiridyelerden ve % 21.3'ü mantarlardan elde edilmektedir (Guang, 2002).

Daha önce yapılan çalışmalarda yengeç (*Portunus pelagicus* L.) kabuğunun %20, karides (*Parapenaeopsis stylifera* H.Milne Edwards) kabuğunun %20 ve kalamarın (*Illex argentinus* Castellanos) %31 oranında kitin içerdikleri belirlenmiştir (Cortizo vd., 2008; Al Sagheer vd., 2009). Yengeç, ıstakoz ve karides gibi türlerde kuru ağırlık üzerinden yapısal bileşenlerini ortalama %20-40 kitin, %30-40 geri kazanılabilir protein ve % 20-30 kalsiyum karbonat oluşturmaktadır (Khor, 2001).

Kabuklu atığındaki kitin, protein, mineral ve karotenoid içeriği uygulanan yöntemler sırasındaki kabuk soyma koşullarına, türlere, organizmanın kısımlarına, yaşam döngüsünün evresi gibi koşullara bağlıdır. Türe göre değişmekle birlikte kabuklular yaklaşık %7-40 oranında alfa kitin içeriğine sahiptir (Tolome vd., 2003).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda dünya genelinde artan kitin ve kitosan ihtiyacını karşılamak amacıyla farklı canlılardan alternatif kitin arayışları devam etmektedir (Kaya vd., 2013b).

Böceklerin dış iskeletinde bulunan kitin, iskelete dayanıklılık kazandırarak böcekleri dış etki ve tehlikelerden korur. Son yıllarda bazı böcek ve *Anthozoa* türlerinin kitin kaynağı olarak kullanılabilirliği üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Böcek kabuklarında yaklaşık %23.5 oranında kitin bulunmaktadır (Demir ve Seventekin, 2009). Larva ve pupa evresindeki *Bombyx mori* L.'nin %15-20 oranında kitin içerdiği belirlenmiştir (Zhang vd., 2000). *Cicada orni* L.'nin %36 oranında (Sajomsang ve Gonil, 2010), *Holotrichia parallela* Hope türünün %15 kitin içerdiği belirlenmiştir (Liu vd., 2012)

Mantarların hücre duvarının kitin içermesinden dolayı kitin kaynağı olarak kullanılabilirliği araştırılmaktadır. Kitin elde edilen mantarlar arasında *Allomyces*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Choanephora*, *Tamnidium*, *Zygorrhynchus* ve *Phygomycetes* gibi çeşitli mantarlar sayılabilir. Bunların kitin içeriği Çizelge 1.1.1'de verilmiştir.

Çizelge 1.1.1. Mikroorganizmalardan bazılarının kitin içeriği (Shahidi ve Abuzaytoun, 2005).

Mikroorganizmalar	% Kitin İçeriği	Mikroorganizmalar	% Kitin İçeriği
<i>Aspergillus niger</i> P.Micheli	42	<i>Mucor rouxii</i> Fresen	9.4
<i>Aspergillus phoenicis</i> P.Micheli	23.7	<i>Neurospora crassa</i> Shear	8-11.9
<i>Blastomyces dermatidis</i>	13	<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	11
<i>Histoplasma capsutalum</i> Samuel Taylor Darling	25.8-26.4	<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom	19.5-42
<i>Saccharomyces guttulata</i>	2.3	<i>Trichoderma viridis</i> Persoon	12-22

Bazı mantar türlerinin kitin yapıları incelenerek alternatif kitin kaynağı olarak kullanılabilirliklerinin araştırıldığı çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda bazı mantarların kuru ağırlıklarının kitin içerikleri belirlenmiştir. *Boletus* spp. türü mantarlarının kuru ağırlıklarının kitin içeriklerinin %0.5-3.3 arasında olduğu kaydedilmiştir (Manzi vd., 2004). Kültürü kolaylıkla yapılabilen *Agaricus bisporus* J.E. Lange, *Lentinula edodes* Pegler ve *Pleurotus ostreatus* P.Kumm mantar türlerinin kitin içerikleri araştırılmış ve %4.31-9.66 arasında değiştiği gözlenmiştir (Vetter, 2007).

Di Mario vd., (2008) tarafından *Basidiomycetes*'e ait 7 türün kuru ağırlıklarının kitin içeriği incelenmiş, kitin içeriklerinin türlere göre %8.5-19.6 arasında değiştiği kaydedilmiştir.

Basidiomycetes ve *Ascomycetes*'in deproteine edilmiş hücre duvarları %26–65 arasında değişen kitin içeriğine sahiptir. *Agaricus bisporus* hücre duvarlarının içeriği, %22 protein, %72 kitin, %3 selüloz, glukozamin ve mineral tuzlarından oluşmaktadır. *Basidiomycetes*, kitin verimliliği bakımından diğer mantarlara oranla önemli ölçüde üstün gelmektedir (Simpson vd., 1994; Kurita, 2001; Synowiecki vd., 2003; Shahidi ve Abuzaytoun, 2005).

1.2. Mısırdaki Görülen Hastalık ve Zararlılar

Dünyada *Zea mays* L. (mısır)'ın 60'dan fazla hastalığının ve 400'den fazla hasar veren zararlı türünün bulunduğu tespit edilmiştir. Hastalık ve zararlılar tohumdan başlayarak, bitkinin her devresinde etkili olmaktadır (URL-1.).

Mısır bitkisi yetiştirme periyodu boyunca çeşitli etmenler tarafından (mantarlar, bakteriler, virüsler, nematodlar, vd.) oluşturulan hastalıklar ve zararlıların istilasına uğrayabilir.

Bölgelerimizin değişik iklim şartlarına göre az çok değişmekle birlikte, genel olarak mısır tarımında en çok görülen hastalıklar, kökte, sapta, koçanlarda ve tanelerde görülen çürüklükler; *Helminthosporium* spp. tarafından meydana getirilen yaprak yanıklıkları (*H. maydis* Y. Nisik, *C. Miyake*, *H. turcicum* Pass.) ve tane veriminde büyük düşüşler meydana getirebilen Rastık (*Ustilago maydis*) olarak sayılabilir (Babaoğlu, 2005, URL-2.).

Hastalıkların yanında, önemli sayılabilecek bazı zararlılar da mısır tarımında problemlere yol açabilir. Bitki öz suyunu emen, hafif serin ve nemli havalarda ortaya çıkan, yaprak bitleri (*Aphis maidis* Latreille) ve sıcak ve kuru havalarda ortaya çıkan kırmızı örümcekler (*Tetranychus* spp.), bitkinin yeşil aksamalarını yiyen yeşil kurt (*Heliothis armigera* Ochsenheimer) ve çizgili yaprak kurdu (*Spodoptera* Guenée), yine bazı bölgelerimizde sap ve koçan içerisinde galeriler açarak yoğun zarar yapan mısır sap kurdu (*Eustrinia* spp.) ve mısır koçan kurdu (*Sesamia* spp.), mısır tarımında karşılaşılabilecek önemli zararlılar olarak sayılabilir (Babaoğlu, 2005, URL-2).

U. maydis mısır bitkisinde yaygın olarak görülen hastalık etmeni olan *Heterobasidiomycetes* sınıfında yer alan bir mantardır. Bu çalışmada kitin izole edilen mantarın sistematik kategorisi aşağıdaki gibidir.

Regnum (Alem): Eukarya

Divisio (Bölüm): Basidiomycota

Classis(Sınıf): Heterobasidiomycetes

Ordo (Takım): Ustilaginales

Genus (Cins): Ustilago

Species (Tür): *Ustilago maydis*

Ustilaginales takımında yer alan mantarların hayat devrinde ustospor (Diploid) ve basidiospor (Haploid) olmak üzere iki tip spor ayırt edilir. Mantarın dikaryotik miseli tek tek hücreler halinde parçalanır. Bu hücrelerden her biri bir ustospor oluşturur. Ustosporlar önce dikaryotiktir, erginleşirken dikaryotik hale geçerler. Renkleri kömür gibi siyahtır. Yıllarca çimlenme özelliğini koruyabilen ustosporlar mantarın dinlenme fazıdır. Mayoz bölünme sonrasında çimlenip enine 4 hücreye bölünmüş bir basidium meydana getirirler. Bu hücrelerin her biri birer basidiospor oluşturur.

Eşey bakımından farklı basidiosporlar dikaryotik fazı oluştururlar. Meydana gelen dikaryotik ve genelde kulplu misel, konağın dokusu içinde gelişir (Altuner 2009).

Hastalık etmeninin sporları mısır bitkisinin toprak üstü organlarında gâl adı verilen şişkinlikler oluşturur (Banuett ve Herskowitz, 1989). Oluşan bu şişkinlikler bitkilerin sararmasına, zayıflamasına, yatma ve kırılmasına, bodurlaşmasına ya da fidelerin ölümüne sebep olur. Olgunlaşan gâllerin parçalanması sonrasında rüzgârla veya mekanik yollarla sporlar etrafa yayılır (Astiz ve Molina, 2010). Ayrıca hastalık ertesi yıla bulaşık toprak ve hastalıklı bitki artıkları ile de geçer. Bu mantar türü mısır tarımında ciddi zararlara yol açmaktadır.

Bu çalışmanın amacı, mısır bitkilerinde parazit olarak yaşayan, ekonomik açıdan oldukça zararlı, doğada fazla miktarda bulunan ve kozmopolit bir mantar türü olan *U. maydis*'in kitin içeriğinin belirlenerek kitin kaynağı olarak kullanılabilirliğinin araştırılmasıdır. Elde edilen kitin yapısı FTIR, TGA, XRD teknikleri ve SEM çekimleri sonucunda elde edilen mikrofotografılar ile karakterize edilmiştir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Abdulkarim vd. (2013)'nin yaptığı çalışmada midye kabuğunun kitin içeriği belirlenmiştir. Midye kabuğundan izole edilen kitin ve kitosan, FTIR ve elemental analiz ile karakterize edilmiştir. Kitosan için FTIR spektrumları 3447 cm^{-1} ve 1477 cm^{-1} 'de karakteristik bant vermiştir. Midye kabuğunun, %51.62 mineral içeriğe, %21.32 kitin içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Deasetilasyon derecesi %60.66 olarak hesaplanmıştır.

Kaya vd. (2013a), tarafından yapılan çalışmada alternatif kitin kaynağı olarak *Daphnia magna* Straus yumurtasının (resting eggs) kitin içeriği tespit edilmiştir. Kitin verimi % 18-21 olarak belirlenmiştir. FTIR, element analizi, TGA, XRD ve SEM çalışmaları ile karakterize edilen kitinin alfa kitin karakterinde olduğu açığa çıkmıştır.

Kaya vd. (2013b)'nin yaptığı çalışmada *Gammarus argaeus* L. kitin izolasyonu için araştırılmıştır. *G. argaeus*'dan izole edilen kitin FTIR, TGA, XRD ve SEM analiz teknikleri kullanılarak karakterize edilmiştir. Bütün bu analizler *G. argaeus*'dan izole kitinin alfa formunda olduğunu göstermiştir. *G. argaeus*'un kuru ağırlık üzerinden % 11-12 kitin içeriğine sahip olduğu bulunmuştur. İzole edilen alfa kitinin SEM çekimleri nanofibriller (11-55 nm) ve gözenekli (yaklaşık 150 nm) bir yapıya sahip olduğunu göstermiştir.

Vani ve Shaleesha (2013)'ın çalışmasında kimyasal ekstraksiyon yöntemi ile farklı kabuklu sucul organizmalardan kitin çıkarma işlemi yapılmıştır. Suda yaşayan organizmalardan *Gecarcoidea natalis* Pocock, *Cyrenoida floridana* Dall., *Penaeus indicus* H. Milne-Edwards ve *Abra alba* W.Wood, ile çalışılmıştır. Sonuçlara göre *Cyrenoida floridana* 'nın % 64, *Gecarcoidea natalis* 'in % 45, *Penaeus indicus* ve *Abra alba* 'nın % 31 oranında kitin içerdiği bulunmuştur. Kitin, H-NMR spektroskopisi kullanılarak karakterize edilmiştir. Ayrıca izole edilen kitin kitosana dönüştürülerek farklı alanlarda kullanımına imkân sağlanmıştır.

İsa vd. (2012), tarafından yürütülen çalışmada yengeç, kerevit, karides ve salyangozdan demineralizasyon ve deproteinizasyon aşamaları sonrasında kitin elde edilmiştir. En fazla kitin % 8.15 oranıyla karidesten, daha sonra yengeçten % 7.80, kerevitten % 2.88, salyangozdan ise % 0.44 oranında kitin izole edilmiştir. Yengeçte % 4.16 protein, % 1.30 yağ, % 74.12 karbonhidrat bulunduğu tespit edilmiştir. İzole edilen kitinler XRD ve SEM ile karakterize edilmiştir. SEM mikrofotograflarında karides ve yengeçten izole edilen kitinde fibriler ve granüler yapı gözlenmiştir. Kerevitin kitin yüzeyi paralel bir iplik oluşturacak şekilde liflerden oluştuğu belirlenmiştir. XRD analizi farklı

kaynaklardan izole edilen kitinlerde, farklı tepe noktaları ve farklı kristal derecelerinin olduğunu göstermiştir.

Liu vd. (2012), tarafından yapılan çalışmada *Holotrichia parallela* türü böcekten kitin izolasyonu için 1 M HCl ve 1 M NaOH çözeltilerinin ardından renksizleştirme işlemi için % 1 potasyum permanganat çözeltisi kullanılmıştır. Bu türden % 15 oranında kitin izole edilmiştir. İzole edilen kitin XRD, SEM ve elemental analiz teknikleri ile karakterize edilmiştir. Kitinin deasetilasyon derecesi % 93.1 olarak hesaplanmıştır. XRD sonuçlarında 9.2° ve 19.1° iki güçlü pik, 12.6°, 22.9° ve 26.2° üç zayıf pik kaydedilmiştir. Kitinin kristalitesi % 89.05 olarak belirlenmiştir. FTIR spektrumunda ise alfa kitin için karakteristik olan 1.654 cm⁻¹, 1.560 cm⁻¹ ve 1.310 cm⁻¹ bantları kaydedilmiştir.

George vd. (2011), tarafından yapılan çalışmada *Aspergillus flavus* Johann Heinrich Friedrich Link, *Botryodiplodia theobromae*, *Cladosporium cladosporioides* G.A. de Vries, *Fusarium* spp. ve *Phoma* spp. mantar türleri seçilmiştir. NaOH ve asetik asit kullanarak mantarlardan kitosan ekstre edilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre *Aspergillus flavus*'dan 57 mg/g, *Cladosporium cladosporioides*'dan 25.2 mg/g ve *Phoma* spp. türünden 31.1 mg/g kitosan izole edilirken, *Fusarium* spp. ve *Botryodiplodia theobromae* mantarlarından kitosan elde edilememiştir. Kitosan FTIR spektroskopisi ile analiz edilmiştir. FTIR spektrumlarında 3000 cm⁻¹ ve 3500 cm⁻¹ geniş bantlar gözlenirken, 2885 cm⁻¹, 1650 cm⁻¹, 1589 cm⁻¹, 1326 cm⁻¹ ve 1080 cm⁻¹ değerleri civarında da zayıf pikler kaydedilmiştir.

Limam vd. (2011), tarafından gerçekleştirilen çalışmada *Parapenaeus longirostris* ve *Squilla mantis* L. türlerinden izole edilen kitin daha yararlı çözünür olan kitosana dönüştürülmüştür. Bu ürünlerin, antimikrobiyal ve anti-fungal özellikleri gibi biyolojik aktiviteleri de belirlenmiştir. Üretilen kitin ve kitosanın FTIR ile karakterize edildiği çalışmada spektrumda 1552 cm⁻¹ ile 1652 cm⁻¹'de pik verdiği gözlenmiştir.

Thirunavukkarasu vd. (2011), tarafından yapılan çalışmada *Oratosquilla quinquedentata*, *Oratosquilla nepa* türleri seçilmiştir. 20'şer g örneğin kullanıldığı çalışmada *O. quinquedentata*, *O. nepa* türlerinde sırasıyla 2.125 g ve 2.145 g kitin izole edilmiştir ve kitin verimleri % 10.625 ve % 10.725 olarak belirlenmiştir. FTIR spektrumlarında *O. quinquedentata* 569.00 cm⁻¹, 1070.77 cm⁻¹, 1370.41 cm⁻¹, 1555.02 cm⁻¹ ve 1656.82 cm⁻¹'de, *O. nepa* ise 529.15 cm⁻¹, 695.23 cm⁻¹, 897.35 cm⁻¹, 1028.95 cm⁻¹, 1200 cm⁻¹, 1324.28 cm⁻¹, 1371.11 cm⁻¹ ve 1634.55 cm⁻¹'de bantlar gözlenmiştir.

Das ve Ganesh (2010), tarafından yapılan çalışmada *Podophthalmus vigil* yengecinden kitin izole edilmiştir. Kitin izole edildiği aşamalardan biri olan demineralizasyon aşaması ile ilgili çalışma yapılmıştır. Demineralizasyon, kitinin fizikokimyasal özelliklerini etkileyen kuvvetli bir asit (HCl) kullanımını içeren kimyasal yöntemdir. Organik asit üreten *Lactobacillus plantarum* Orla-Jensen ve deproteinizasyon aşamasında hidroklorik asit üreten mantar *Aspergillus niger* Van Tieghem bakterileri kullanılmıştır. Bu çalışma, yengeç kabuklarının demineralizasyonu için hidroklorik asit kullanımının yerine, laktik asit bakterileri kullanılarak da gerçekleştirilebileceğini göstermiştir.

Yen ve Mau (2006), tarafından yapılan çalışmada *Lentinula edodes* Pegler mantarından izole edilen kitinde üç farklı alkali renk giderme tekniğini kullanılmıştır. Renk giderme amacıyla sodyum hipoklorit, etanol ve potasyum permanganat çözeltileri kullanılmıştır. En fazla kitin verimi sırasıyla etanol, sodyum hipoklorit ve potasyum permanganat çözeltileri kullanılan tekniklerde bulunmuştur ve % 25.08-36.72 oranında kitin izole edilmiştir.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. Malzeme

Kayseri'nin Develi ilçesinden toplanan *U. maydis* örnekleri etüvde 60°C'de 24 saat kurutulmuştur. Kitin izole edildikten sonra kitinin karakterizasyonunda FTIR, TGA, XRD teknikleri ve SEM mikroskobu kullanılmıştır.

3.1.1. FTIR

U. maydis'den elde edilen kitinin FTIR spektrumları, Perkin Elmer FTIR modeli spektrometre kullanılarak 625-4000cm⁻¹ frekans aralığında ölçülmüştür.

3.1.2. TGA

TGA, EXSTAR S11 7300 analiz cihazı kullanılarak 10 ° C/ dk'lık bir ısıtma hızında gerçekleştirilmiştir. Kitinin termal bozulmasına bağlı olarak TG ve DTG eğrilerinin elde edilmesi için kullanılmıştır.

3.1.3. XRD

XRD spektrumlar, Rigaku D max 2000 X- ışını difraktometresi kullanılarak 40 kV, 30 mA ve 5 ° < 2θ < 45 den kırılma aralığında kaydedilmiştir.

3.1.4. SEM

U. maydis'den elde edilen kitinin Selçuk Üniversitesinde “Sputter Coater (Cressingto Auto 108)” marka cihaz ile altın kaplama işlemi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra altın kaplanmış örneğin görüntülenme işlemi Aksaray Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezinde bulunan QUANTA- FEG 250 ESEM ile 5.000X, 10.000X, 30.000X büyütme kullanılarak mikrofotografı çekilmiştir.

3.2. Yöntem

Mantar örneklerinden kitin eldesi demineralizasyon, deproteinizasyon ve dekolizasyon aşamalarından oluşmaktadır.

3.2.1. Demineralizasyon işlemi

Demineralizasyon işlemi mineralleri uzaklaştırmak amacıyla uygulanan işlemdir. Mineralleri uzaklaştırmak için asit kullanılmaktadır. 10 g kurutulup havanda öğütülmüş mantar örnekleri üzerine 4 M 100 ml hacimde HCl ilave edildi. HCl asit mineralleri uzaklaştırmak amacı için kullanılmıştır. Bu şekilde 50-75 °C sıcaklık ve 1000 devirde karıştırılarak ısıtıcı karıştırıcı üzerinde 12 saat bekletildi. Daha sonra süzgeç kâğıdından süzüldü. Süzme esnasında sürekli saf su eklenerek örnekten süzülen suyun rengi beyaz olana kadar bu yıkama ve süzme işlemi uygulandı. Sonra süzüntü süzgeç kâğıdından spatül ile alınarak baz aşamasına (deproteinizasyon) alındı.

3.2.2. Deproteinizasyon işlemi

Kitinde bulunan proteinlerin uzaklaştırılması işlemine deproteinizasyon denilmektedir. Deproteinizasyon için NaOH, Na₂CO₃, KOH gibi çeşitli kimyasal maddeler denenmiştir. Ancak yapılan araştırmalar sonucunda en uygun kimyasalın NaOH olduğu görülmüştür (Demir ve Seventekin, 2009).

Süzülen örnek üzerine 2 M 50 ml hacimde NaOH eklendi. 150-175 °C sıcaklıkta ısıtıcıli karıştırıcıda 24 saat bekletildi. Daha sonra süzme işlemine geçildi. Aynı şekilde örnekten süzülen sıvı su gibi berrak akana kadar saf su ile yıkama işlemine devam edildi. Sonra süzüntü süzgeç kâğıdından spatül ile alınarak son aşama olan dekolorizasyon aşamasına geçildi.

3.2.3. Dekolorizasyon işlemi

Dekolorizasyon renksizleştirme işlemidir. Bu aşamada süzüntünün üzerine (1:2:4= kloroform (5 ml): metanol (10 ml): saf su (20 ml)) 35 ml karışım eklendi. Karıştırıcıda ısıtma işlemi yapmadan 1000 devirde 1 saat boyunca karıştırıldı. Daha sonra tekrar süzülüp yıkandı. Elde edilen ürün, bir saat camına konarak etüvde 60-70 °C sıcaklıkta 3-4 saat kurutuldu ve soğuyunca tartıldı.

3.2.4. FTIR, TGA ve XRD teknikleri ve SEM mikrofotografı

Demineralizasyon, deproteinizasyon ve dekolorizasyon işlemleri sonucunda kitin elde edilmiştir. Elde edilen kitin FTIR, TGA ve XRD cihazları ve SEM mikrofotografı ile karakterize edilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. FTIR

Kitin karakterizasyonundaki önemli yöntemlerden birisi de FTIR spektrumudur. Kitin, doğada alfa, beta ve gama olmak üzere 3 farklı formda bulunur (Rudall, 1973; Cabib vd., 1988). FTIR spektrumunda alfa kitinde 3 pik gözlenirken, beta kitinde tek pik gözlenir. Beta kitinde 1650 cm^{-1} 'de pik gözlenir (Kurita vd., 1993; Rinaudo, 2006; Lavall vd., 2007). Alfa formundaki kitinde ise 1650 cm^{-1} , 1620 cm^{-1} ve 1550 cm^{-1} 'de pik gözlenmektedir (Focher vd., 1992; Rinaudo, 2006; Lavall vd., 2007). Orta dalga boyu aralığında en fazla 1660 cm^{-1} ve 1000 cm^{-1} aralığında bantlar vardır. Bu bantlar amid I, II ve III, sakkarid halkası, fosfodiester grupları ve protein bileşenleri ile ilişkilidir (Juárez-de la Rosa vd., 2011).

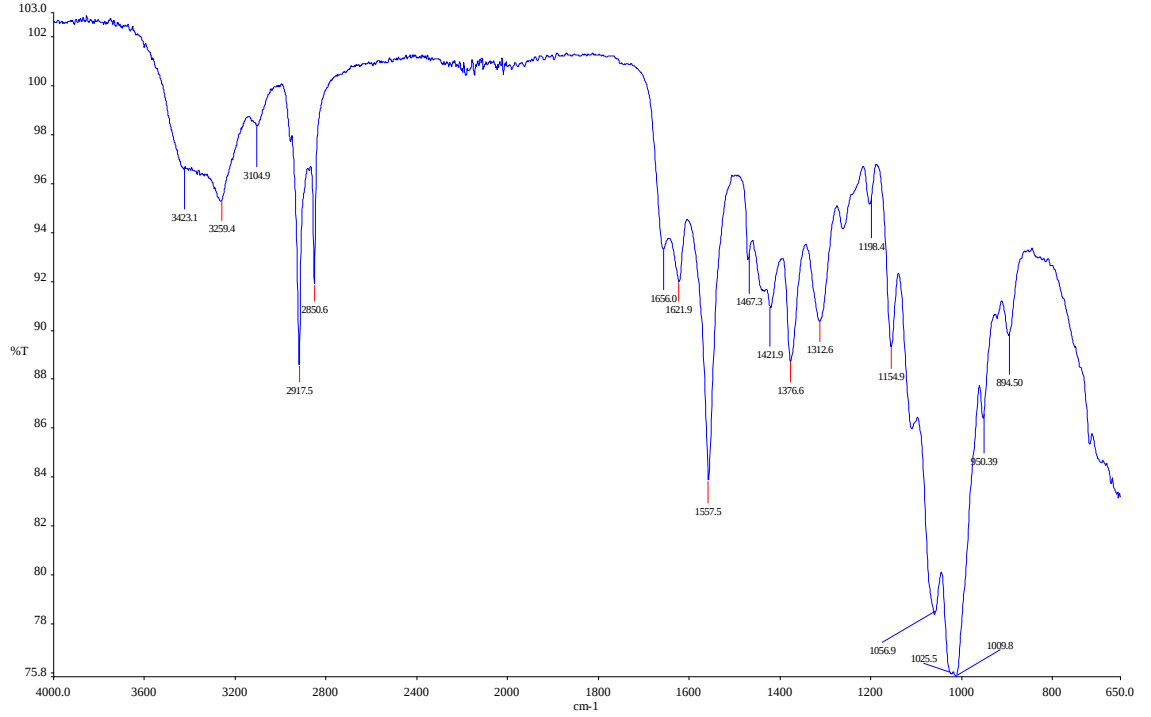
Daha önce konuyla ilgili yapılan çalışmalarda belirtildiği gibi alfa kitindeki $1,654\text{ cm}^{-1}$ ve $1,627\text{ cm}^{-1}$ 'de verilen bantlar önemlidir. Alfa kitine karşılık gelen amid gruplarının oluşturduğu kristal bölgeler H bağlarına anti paralel uyum gösterir (Focheret vd.,1992; Rinaudo, 2006). Alfa formundaki kitin doğada oldukça yaygındır (Minke ve Blackwell, 1978). Kitinin beta formunun kalamarda (Rudall, 1969; Al Sagheer vd., 2009), gama formunun ise bazı maya ve mantarlarda (Al Sagheer vd., 2009) ve böcek kozasında (Kenchington, 1976) bulunduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmada, *Ustilago maydis* mantar örneklerinin FTIR spektrumu kitin varlığını göstermektedir. *U. maydis*'den elde edilen kitinin FTIR spektrumu Şekil 4.1.1 de gösterilmiştir. *U. maydis* kitininin FTIR spektrumunda 1656 cm^{-1} , 1621 cm^{-1} ve 1557 cm^{-1} 'de olmak üzere 3 önemli pik gözlenmiştir. Bu sonuç elde edilen kitinin alfa kitin karakterinde olduğunu gösterir. Çizelge 4.1.1'de *U. maydis*'den izole edilen kitinin FTIR bantları gösterilmektedir.

4.2. TGA

TGA, *U. maydis* ve diğer türlerden izole edilen ekstre kitinlerde ağırlığın sıcaklık ile azaldığını göstermektedir. TGA ve DTG eğrilerinde termal dönüşümle ilgili iki ayrı ağırlık kaybı görmek mümkündür. Bunlardan ilki $0-150^{\circ}\text{C}$ arasında kaydedilen % 5.86 oranındaki kayıptır. Diğer kayıp ise 331.7°C 'de görülen % 50.64 oranındaki kayıptır (Şekil 4.2.1).

İlk aşamada gerçekleşen kütle kaybı, yapısındaki suyun buharlaşmasından kaynaklanır (Kittur vd., 2002). İkinci aşamadaki kayıp ise yapısındaki polisakkaritlerin bozulmasından kaynaklanmaktadır (Kaya vd., 2013).



Şekil 4.1.1. *Ustilago maydis*'den elde edilen kitinin FTIR spektrumu

DTG eğrileri, su kayıplarının hangi grupların buharlaşmasından kaynaklı olduğunu göstermektedir. DTG eğrileri 0-150 °C sıcaklık aralığında çeşitli su kayıplarını göstermektedir. Başlangıçta 50 °C'de yüzeysel bir su kaybı görülebilir. Daha sonra 60-100 °C arasında OH ve CH₂OH gruplarından ikincil buharlaşma meydana gelir. Son olarak, sıcaklık 100 °C üzerine çıktığı zaman sakkarit halkalarına doğrudan bağlanan OH gruplarının ayrılmasıyla su kaybı gerçekleşir (Juárez-de La Rosa vd., 2012).

İkinci aşamada tüm numuneler için 250-350 °C sıcaklık aralığında bir pik gözlenir. Bu, çeşitli işlemlerin ilerlemesi sonucu denatürasyon ve depolimerizasyon ile ilgili olabilir. Bu dönüşümde kitinde alifatik bileşikler (CH₂ ve CH₃ fonksiyonel grupları), amit I ve amit II grupları, sakkarit yapısı (C-O-C, C-O-P, P-O-P) ve fosfodiester grupları (CO, P=O, PO₂⁻) bozulmuştur (Juárez-de La Rosa vd., 2012).

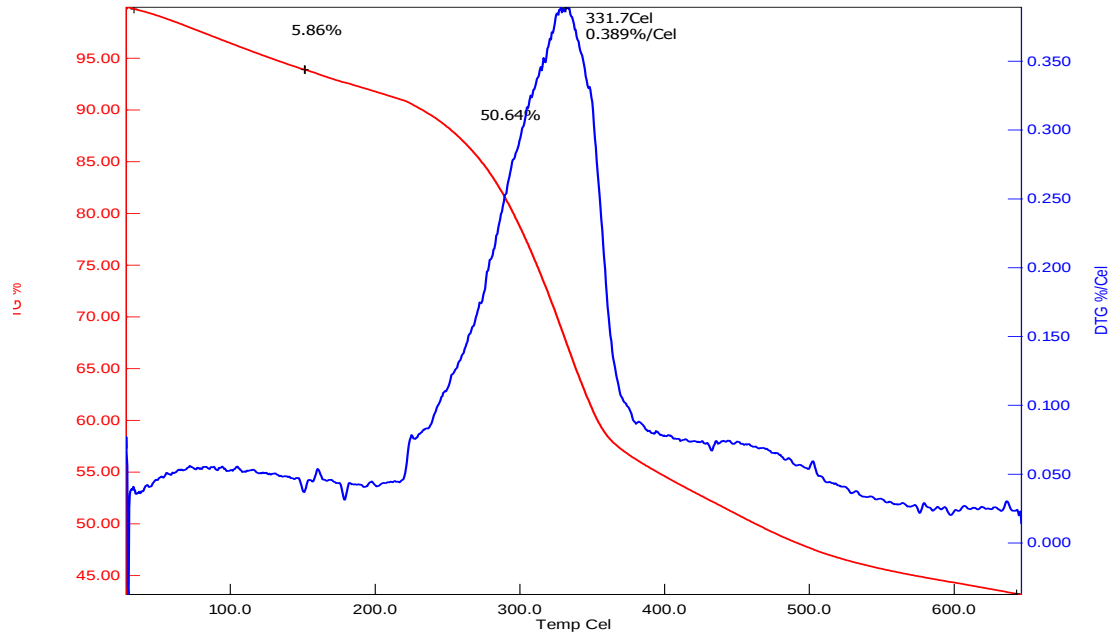
Termogravimetrik analiz (DSC, TGA ve DTG) sonuçları ekstre kitinin 300-400 °C sıcaklık aralığı arasında bozulduğunu göstermektedir (Kittur vd., 2002). Ancak kitin gibi biyopolimerlerin termal özellikleri özellikle de bozunma sıcaklığı çeşitli faktörlere bağlıdır. Kaynak, numune tipi, saflık ve deasetilasyon derecesi bu faktörlerden bazılarıdır (Juárez-de La Rosa vd., 2012).

Daha önceki bir çalışmada, TGA alfa yapısındaki kitinde 350-380 °C sıcaklık aralığında ayrışma olurken, gama formundaki kitinde 300 °C'de ayrışma olduğu tespit edilmiştir (Jang vd., 2004).

Bu çalışmada, TGA ve DTG incelemeleri *U. maydis*'den elde edilen kitinde yaklaşık 331.7 °C'de ağırlık kaybının kaydedilmesi kitinin alfa kitin karakterinde olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.1.1. *Ustilago maydis*'den izole edilen kitinin FTIR bantları

Fonksiyonel Grup ve Titreşim Modları	Sınıflandırma	<i>U. maydis</i>
O–H gerilmeleri	-	3423.1
N-H gerilmeleri	-	3259.4-3104.9
CH ₃ simetrik gerilmeleri ve CH ₂ asimetrik gerilmeleri	Alifatik bileşikler	2917.5
CH ₃ simetrik gerilmeleri	Alifatik bileşikler	2850.6
C=O İkincil amit gerilmeleri	Amit I	1656
C=O İkincil amit gerilmeleri	Amit I	1621.9
N–H eğilmeleri, C–N gerilmeleri	Amit II	1557.5
CH ₂ eğilmeleri ve CH ₃ deformasyonu	-	1467.3-1421.9
CH eğilmeleri, CH ₃ simetrik deformasyonu	-	1376.6
CH ₂ bükülmeleri	Amit III, Protein bileşenleri	1312.6-1198.4
Asimetrik C-O bağı gerilmeleri	-	1154.9
Asimetrik halka gerilme modları	-	
C–O–C Asimetrik halka içi gerilmeleri	Sakkarit halkalar	1056.9
C–O Asimetrik halka içi gerilmeleri	-	1025.5-1009.8
CH ₃ bükülmeleri	Zincir boyunca	950.39
CH halka gerilmeleri	Sakkarit halkalar	894.50



Şekil 4.2.1. *U. maydis*'den elde edilen kitinin TG ve DTG sonuçları

4.3. XRD

XRD analizi, elde edilen kitinlerin kristalitesini tespit etmek için kullanılmıştır. XRD modellerinde görüleceği gibi çeşitli canlılardan izole edilen alfa kitinin yarı kristal polisakkarit polimeri olduğu bilinmektedir (Juárez-de La Rosa vd., 2012). Kitin, XRD modellerinde 9°, 12°, 19° ve 26°'de karakteristik kristal yansımaları gösterir. Çeşitli organizmalardan izole edilen alfa kitin ile ilgili daha önce yapılan çalışmalarda XRD spektrumları 12°, 21°, 23°, ve 26°'de dört zayıf pik; 9° ve 19°'de iki güçlü pik gözlenmiştir (Yen vd., 2009; Sajomsang ve Gonil, 2010; Juárez-de La Rosa vd., 2012; Liu vd., 2012).

U. maydis'den izole edilen kitinin XRD yansımalarında 2 güçlü (9.58° ve 19.54°) ve 4 zayıf (13.2°, 20.86°, 22.96° ve 26.24°) pik gözlenmiştir (Şekil 4.3.1). Bu çalışmada XRD incelemesi, *U. maydis*'den izole edilen alfa kitin polimerin kristal yapısını ortaya çıkarmıştır.

Daha önce bu konuyla ilgili yapılan çalışmalara göre *G. argaeus*'den izole edilen kitinin XRD spektrumunda 9.24° ve 19.44° de iki güçlü pik; 12.8°, 23.4° ve 26.58°'de üç zayıf pik gösterdiği tespit edilmiştir (Kaya vd., 2013b). Karides ve *H. parallela*, XRD yansımaları 9.2° ve 19.21°'de güçlü; 12.6°, 22.9° ve 26.2°'de üç zayıf yansıma gösterdiği belirlenmiştir. Ağustos böceği (*Cicada orni*) gibi diğer böcek kitinlerinin de 9.20°, 12.60°, 19.18°, 20.68°, 23.30° ve 26.48°'de benzer sonuçlar gösterdiği bildirilmiştir (Sajomsang ve Gonil., 2010).

XRD verilerinden kitinin kristal indeksi (CrI) aşağıdaki bağıntı kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{CrI} = [(I_{110} - I_{\text{am}}) / I_{110}] \times 100 \dots\dots\dots(1.1)$$

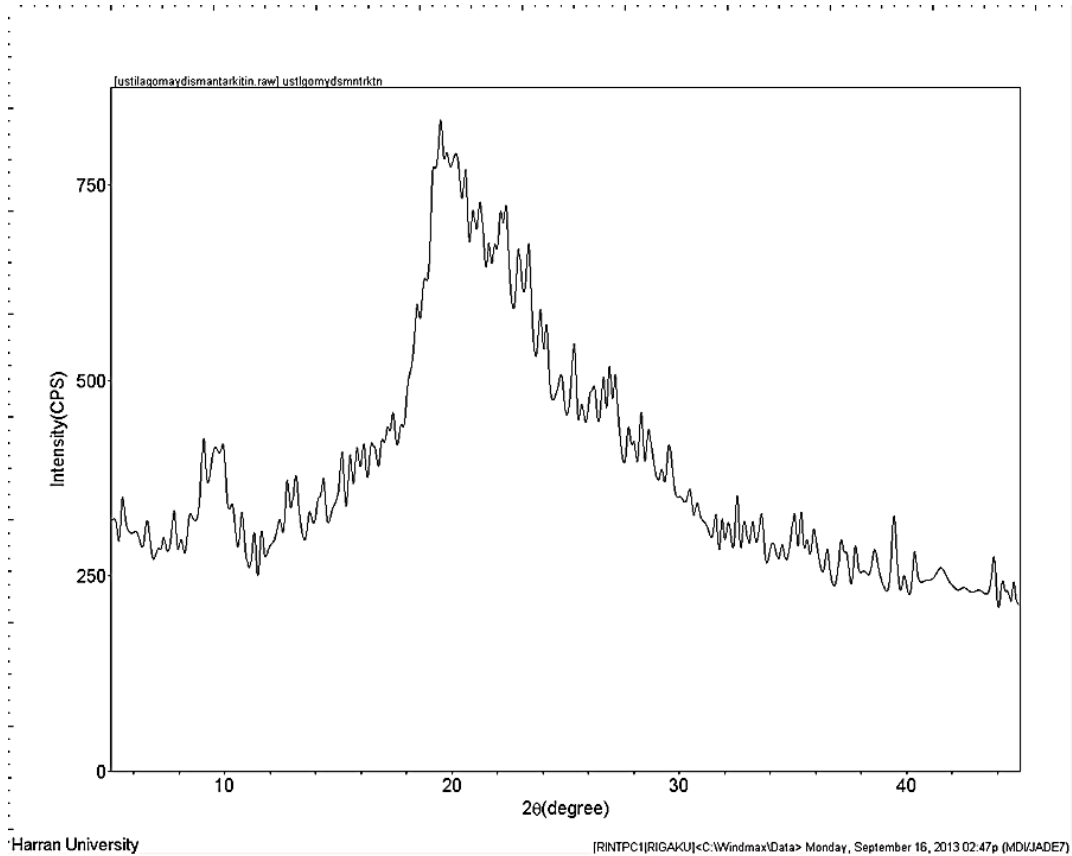
CrI: Kristallik indeksi

I_{110} : Kitin biyopolimerinin maksimum intensitesi,

I_{am} : Maksimum intensitiden bir önceki intensite (Kitin biyopolimerinin amorf yapısının intensitesi)

U. maydis'den elde edilen kitinin kristal indeksi % 74 olarak hesaplanmıştır.

Kristal indeksin belirlendiği bir çalışmada, karideste % 89.17 ve *H. parallela*'nın % 89.05 oranında kristal indeksi bulunmuştur. Diğer bir çalışmada ise larva ve pupa evresindeki ipek böceğinin (*Bombyx mori*) % 54, ağustos böceğinin (*Cicada orni*) % 58 oranında kristal indeksi belirlenmiştir (Zhang vd., 2000).



Şekil 4.3.1. *U. maydis*'den izole edilen kitinin XRD spektrumu

4.4. SEM

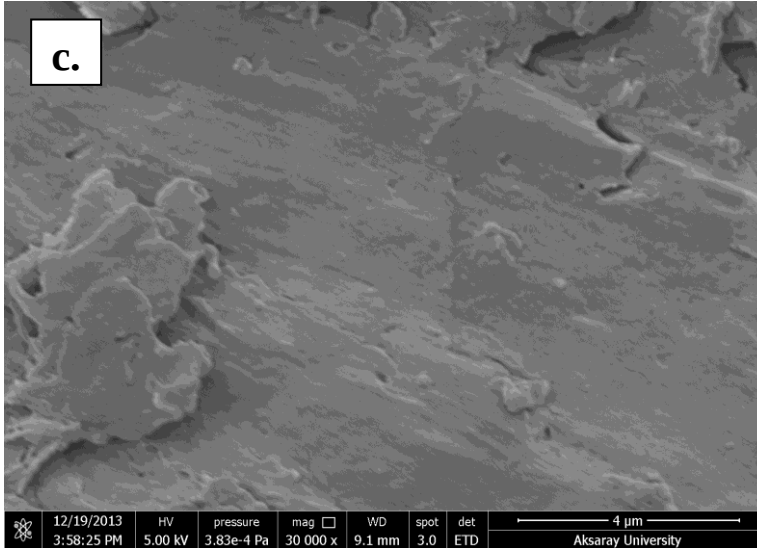
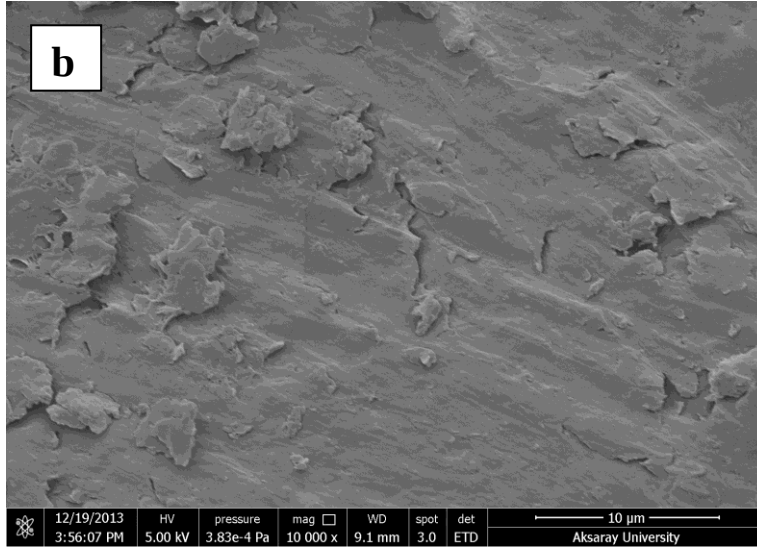
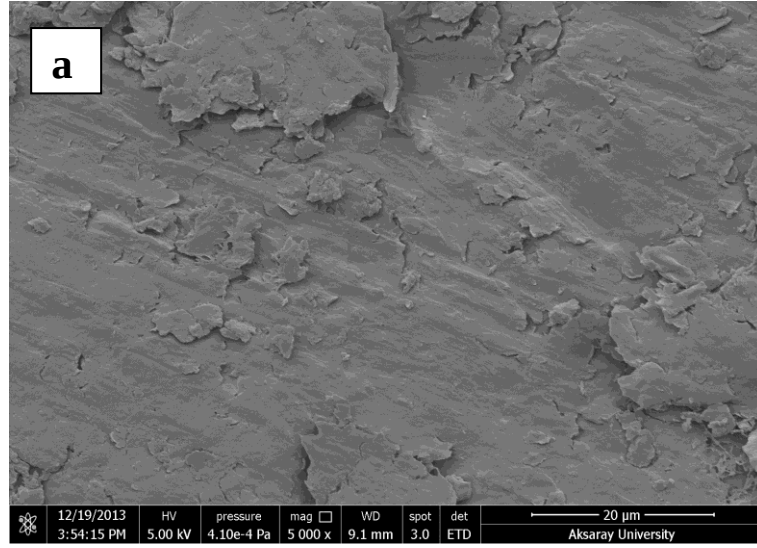
SEM, izole edilen kitinin yüzey morfolojisini belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Şekil 4.4.1'de kitinin 5000X, 10000X ve 30000X büyütmede çekilen görüntüleri görülmektedir. Yapılan incelemeler sonucunda kitinin düz bir yüzeye sahip olduğu gözlenirken, fiber ve por yapılarının bulunmadığı belirlenmiştir.

Daha önce konuyla ilgili yapılan çalışmalarda farklı kaynaklardan izole edilen kitinlerin farklı yüzey morfolojilerine sahip olduğu görülmüştür. Bazı kitinlerde hem fiber hem por yapısı bulunurken bazılarında sadece fiber ya da sadece por yapısının bulunduğu görülmüştür. Mevcut çalışmada olduğu gibi fiber ya da por yapısının bulunmadığı düz bir yüzeye sahip kitinlerin bulunduğu çalışmalar da bulunmaktadır.

G. argaeus'dan elde edilen kitin yüzeyi 1000X büyütmede pürüzsüz bir yüzey olduğu tespit edilmiştir. 5000X büyütmede lifli bir yüzey gözlenirken, 10000X ve 20000X büyütmelerinde por yapısının varlığı belirlenmiştir. Por yapısının 150 nm boyutlarında, fiber yapısının ise 15-55 nm boyutlarında olduğu tespit edilmiştir. SEM analizleri sonucunda *G. argaeus*'dan izole edilen kitinin kontrollü ilaç verme, filtrasyon, dental uygulamalar için yara sargıları ve tekstil gibi farklı alanlarda kullanılabileceği öngörülmektedir (Kaya vd., 2013b).

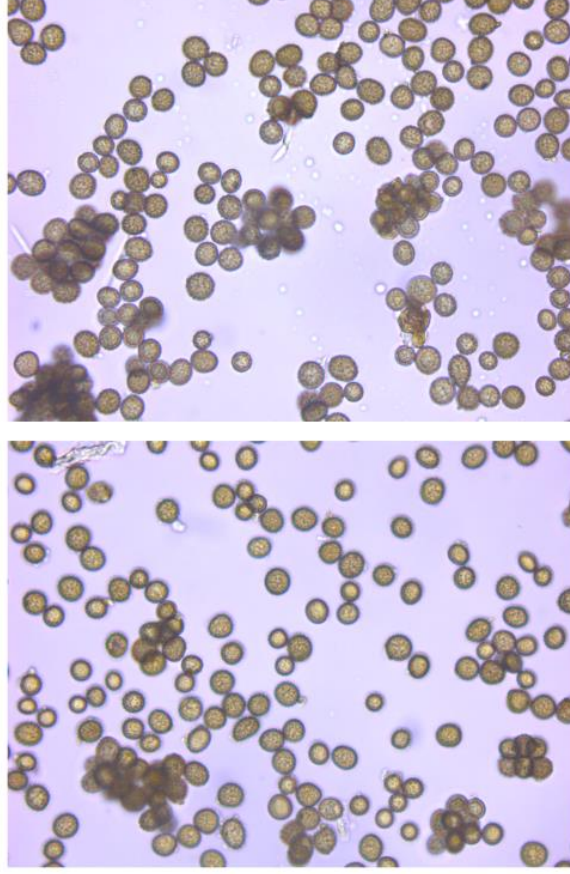
Karides kitininde daha az yoğun bir yapıya sahip, fiber ve por içeren, çok düzgün bir yapı açık bir şekilde gözlenmiştir. Yengeç ve kerevit kitin yüzeyinin daha az kristal halinde ve birbirinden farklı olacak şekilde bir yapı olduğu ortaya çıkmıştır. Ayrıca kerevitten izole kitin yüzeyinde, paralel iplik ağları oluşturan fiber yapısı mevcuttur (Isa vd., 2012).

Yetişkin *H. parallela*'dan izole 5000X büyütmede kitin yüzeyinde belirgin bir mikrofiber yapısının varlığı gözlenmiştir (Liu vd., 2012). Benzer sonuçlar *Cicada sloughs*'den izole edilen kitinin SEM fotoğraflarında da görülebilir (Sajomsang ve Gonil, 2010).



Şekil 4.4.1. *U. maydis*'den izole edilen kitinin SEM görüntüleri (a. 5000X, b. 10000X, c. 30000X)

Bu çalışmada izole edilen kitinin SEM mikrofotoğraflarına ek olarak hastalıklı mısır bitkisinden alınan ęâl örneklerinden kesit alınarak, ışıık mikroskobu ile de ęörüntüleri incelenmiştir. şekil 4.4.2 *U. maydis*'in ışıık mikroskobu ęörüntüsünü ęöstermektedir.



şekil 4.4.2. *Ustilago maydis*'in ışıık mikroskobu ęörüntüleri

5. SONUÇ

Mısırdaki parazit olarak yaşayan *Ustilago maydis* türü mantarının kuru ağırlık üzerinden % 11 kitin içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. İzole edilen kitin FTIR, TGA, XRD teknikleri ve SEM mikroskobu ile karakterize edilmiştir.

FTIR spektroskopisi sonuçlarına göre 1656 cm^{-1} , 1621 cm^{-1} ve 1557 cm^{-1} 'de üç pik kaydedilmiştir. Bu piklerin karakteristik alfa kitin yansımalarına karşılık gelmesinden dolayı izole edilen kitinin alfa kitin karakterinde olduğu sonucuna varılmıştır.

TGA eğrilerinde sıcaklığa bağlı iki ağırlık kaybı gözlenmiştir. Bu kayıptan ilki $0-150^{\circ}\text{C}$ aralığında kaydedilen %5.86 oranındaki kayıptır. Diğer kayıp ise 331.7°C 'de gözlenen %50.64 oranındaki kayıptır. TGA eğrilerinde alfa formundaki kitinde $330-380^{\circ}\text{C}$ sıcaklık aralığında kayıplar kaydedilmiştir. Bu çalışmada gözlenen 331.7°C 'de gözlenen kayıp izole edilen kitinin alfa kitin karakterinde olduğunu göstermiştir.

XRD analizinde *U. maydis*'den izole edilen kitinin 9.58° ve 19.54° 'de iki güçlü pik, 13.2° , 20.86° , 22.96° ve 26.24° 'de dört zayıf pik gözlenmiştir. Çeşitli canlılardan izole edilen alfa kitinin 9° , 12° , 19° ve 26° 'de karakteristik kristal yansımaları gösterdiği bilinmektedir. Bu çalışmada XRD analizi *U. maydis*'den izole edilen kitinin alfa formundaki kitin karakterinde olduğunu doğrulamaktadır. Ayrıca XRD verilerinden kitinin kristal indeksi hesaplanmıştır ve %74 olarak belirlenmiştir.

SEM mikrofotografında ise *U. maydis*'den izole edilen kitinin düz bir yüzeye sahip olduğu belirlenirken, fiber ve por yapılarının bulunmadığı gözlenmiştir.

Kitinin başlıca kaynağını deniz kabukluları oluşturduğu için çalışmalar karides, yengeç, ıstakoz gibi canlılar üzerinde yoğunlaşmıştır. Ancak kitinin kullanım alanının genişlemesi ile alternatif kitin kaynakları arayışı içerisine girilmiştir. Dünya genelinde ve Türkiye'de deniz kabukluları ve böceklerin kitin içeriği, içerdikleri kitinin karakteri ve kitinin kullanım alanları ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Ancak mantarların kitin içerikleri hakkında sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Mevcut çalışmada parazit bir mantar olan *U. maydis*'in kitin içeriğinin araştırılması ve karakterizasyonu amaçlanmış olup konuyla ilgili yapılan ilk bilimsel çalışmadır. Kuru ağırlık üzerinden % 11 kitin içerdiği ve kitinin alfa kitin karakterinde olduğu sonucuna varılmıştır.

Kitin ve türevleri antimikrobiyal madde olarak, gıda kaplama malzemesi olarak ve katkı maddesi olarak gıda endüstrisinde kullanılmaktadır. Yüksek kolesterolü azaltıcı etkisi bulunmaktadır. Vücuttaki depo yağla birleşerek sindirim yoluyla atılmasını sağladığı için kilo verme amacıyla da diyetisyenler tarafından önerilmektedir. Atık su artımında filtrasyon yapımında da kitin ve türevlerinden yararlanılmaktadır.

Oldukça geniş kullanım alanına sahip kitin nontoksik ve biyobozunur bir materyal olduğu için hem canlılar hem de ekosistem üzerine zararlı etkisi yoktur. Bu nedenle bilim insanlarının ilgisini çeken bu materyal için alternatif bir kaynak olarak kabuklular, böcekler, gibi canlılara ek olarak *U. maydis* de belirlenmiş olup bilim dünyasına tanıtılmıştır.

U. maydis mısır bitkisinin toprak üstü aksamında parazit olarak yaşayan mantardır. Mısır rastığı hastalığına neden olan sporların oluşturduğu gâllerin çeşitli sebeplerle parçalanması sonucu etrafa hastalık etmeni olan sporlar yayılır. Hastalık ertesi yıla sporları taşıyan toprak ya da bitki artıkları ile geçmektedir.

Mısır tarımında oldukça ciddi kayıplara yol açan mantar, mısır üreticileri için sorunlar oluşturmaktadır. Mantar mısır bitkisinin sararmasına, yatmasına ve kırılmasına, fidelerin ölümüne neden olmaktadır. Ayrıca mısırdaki tane büyüklüğü üzerine de etkileri vardır.

Türkiye’de özellikle İç Anadolu Bölgesi, Doğu ve Güneydoğu bölgeleri olmak üzere tüm bölgelerde ve dünyada *U. maydis*’in neden olduğu mısır rastığı hastalığı yaygın olarak görülmektedir. Çalışmada kullanılan örneklerin toplandığı yer olan Kayseri’ nin Develi ilçesinde mısır tarımı yapılan hemen hemen tüm arazilerde mısır rastığı hastalığına rastlamak mümkündür.

Mısır tarımında ciddi zararlara yol açan bu hastalık etmenini uzaklaştırmak için rutin olarak uygulanan kimyasal bir teknik bulunmamaktadır. Hastalık etmeni olan sporları uzaklaştırmak için kaliteli tohum kullanımı, 3-4 yıl dönüşümlü ekim, çok erken ya da çok geç ekimlerden kaçınılması gibi kültürel teknikler uygulanmaktadır.

Yapılan çalışma ile hem ekosistem, hem mısır üreticileri hem de biyoteknolojik alanlar için çok yönlü katkılar sağlanmaktadır. *U. maydis*’in oluşturduğu gâller toplanarak hastalığın oluşma ihtimali azaltılmış olmaktadır. Ayrıca toplanan gâller sporları etrafa bırakamayacağı için hastalığın ertesi yıllarda görülmesi de önlenecektir. Hastalık etmeninin toplanmasıyla, üreticiler tarafından hastalık etkilerinin azaltılması amacıyla kullanılan fungusit kullanımı önlenerek doğaya zararlı kimyasalların yayılmasının önüne geçilmiş olacaktır.

Böylece mısır tarımında hastalığın önlenmesinde uygulanan yöntemler için yapılan harcamaların da önüne geçilmiş olunacaktır. Hastalığın görülmesini azaltmak için kullanılan yöntemlerden biri olan dönüşümlü ekim de devre dışı bırakılarak her yıl düzenli olarak verim alınması sağlanmış olacaktır.

İzole edilen kitinin karakterize edildiği tekniklerden biri olan SEM çekimlerinde kitin yüzeyinin fiber ve por yapısı içermeyip düz yapıya sahip olduğu gözlenmiştir.

Bu çalışmada, izole edilen kitinin, düz bir yüzeye sahip olduğu belirlenirken, Kaya vd. (2013b) tarafından yapılan çalışmada *G. argaeus* türünden izole edilen kitinin SEM çekimlerinde 105 nm boyutlarında por ve 15-55 nm aralığında fibril genişliğinin bulunduğu belirlenmiştir. Nanofiber polimerik yapıların genellikle tekstil, filtrasyon, kontrollü ilaç salınımı, dental uygulamalar için yara sargıları yapımı gibi alanlarda kullanılabileceği belirtilmiştir. Bu çalışmada farklı yüzey morfolojisine sahip olan kitinin farklı kullanım alanları olabileceği öngörülmektedir.

Türkiye’de mısır tarımı yapılan arazilerde oldukça sık rastlanan *U. maydis*’in sebep olduğu hastalıklı mısırlar üreticiler tarafından geleneksel yöntemlerle imha edilmekte ve herhangi bir amaçla kullanılmamaktadır. Hastalıklı mısırların bir birimde toplanarak, tekstil, gıda, tıp, kozmetik gibi alanlarda kullanımı için kaynak oluşturması önerilmektedir. Böylece, atık yağlardan sıvı el sabunu üretimi ya da plastik atıkların dönüşümü yapılan pek çok alan gibi atık konumunda olan bir materyal biyolojik metotlar kullanarak farklı fonksiyonlara sahip materyallere dönüştürülmüş olacaktır.

Sonuç olarak, *U.maydis* mantarının % kitin içeriği, kitinin karakteri, yüzey morfolojisi belirlenmiş olup alternatif kitin kaynağı olduğu belirlenmiştir. Mısır tarımında oldukça fazla kayıplara sebep olan atık bir üründen, tıptan tekstile, su arıtımından gıdaya kadar birçok alanda kullanılan biyoteknolojik bir ürün elde edilmiştir.

KAYNAKLAR

- Abdulkarim, A., Tijani, M. I., Abdulsalam, S., Muhammad, A. J., Ameh, A. O. 2013. Extraction and Characterisation of Chitin and Chitosan from Mussel Shell. Civil and Environmental Research, 3,2.
- Altuner, Z., 2009. Sistematik Botanik-2, 8. Baskı, Aktif Yayınevi, Ankara.
- Al Sagheer, F., Al-Sughayer, M., Muslim, S., Elsabee, M. 2009. Extraction and characterization of chitin and chitosan from marine sources in Arabian Gulf., Carbohydr Polym, 77, 410–9.
- Aranaz, I., Mengibar, M., Harris, R., Panos, I., Miralles, B., Acosta, N., Gâled, G., Heras, A. 2009. Functional characterization of chitin and chitosan, Curr. Chem. Biol., 3, 203-230.
- Babaoğlu, M., 2005. Mısır ve Tarımı, Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü,
- Cabib, E., Bowers, B., Sburlati, A., Silverman, S., 1988. Fungal cell wall synthesis, The construction of a biological structure, Microbiol Sci, 5, 370, 5.
- Cortizo, M. S., Berghoff, C. F., Alessandrini, J. L. 2008. Characterization of chitin from *Illex argentinus* squid pen, Carbohydrate Polymers, 74, 10-15.
- Das, S., Ganesh, E. A. 2010. Extraction of Chitin from Trash Crabs (*Podophthalmus vigil*) by an Eccentric Method, Current Research Journal of Biological Sciences, 2(1), 72-75.
- Demir, A., Seventekin, N . 2009. Kitin, Kitosan ve Genel Kullanım Alanları Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi, 3, 2, 92-103.
- Di Mario, F., Rapana, P., Tomati, U., Galli, E. 2008. Chitin and chitosan from Basidiomycetes, International Journal of Biological Macromolecules, 43, 8-12.
- Elibol, M., 2008. Kabuklu Katı Deniz Ürünleri Artıklarından Kitin, Kitosan ve Türevlerinin Üretimi, Tubitak, Proje No: 106M241
- Focher, B., Naggi, A., Torri, G., Cosani, A., Terbojevich, M. 1992. Chitosans from *Euphausia superba*, Charecterization of solid state structure, Carbohydr. Polym., 18, 43-49.
- Guang, W.Y, 2002. The Effect of Chitosan and Its Derivatives on the Dyeability of Silk, Doktora tezi, Hong Kong Polytechnic University.
- Isa, M. T., Ameh, A. O., Gabriel, J. O., Adama, K. K. 2012. Extraction and Characterization of Chitin from Nigerian Sources. Leonardo Electronic Journal of Practices and Technologies, 73-81.
- Jang, M., Kong, B., Jeong, Y., Lee, C., Nah, J.. 2004. Physicochemical characterization of alpha chitin, beta chitin, and gama chitin separated from natural resources. J Polym Sci Part A Polym Chem, 42, 3423–3432.

- Juárez-de la Rosa, B. A., Quintana, P., Ardisson, P. L., Yáñez-Limón, J. M., Alvarado-Gil J. J. 2011. Effects of thermal treatments on the structure of two black coral species chitinous exoskeleton, *J Mater Sci*, 47,990-998.
- Juárez-de La Rosa, B., Quintana P., Ardisson, P., Yáñez-Limón, J., Alvarado-Gil J. 2012. Effects of thermal treatments on the structure of two black coral species chitinous exoskeleton, *J Mater Sci*, 47, 990–8.
- Kaya, M., Sargın, I., Tozak, K. O., Baran, T., Erdogan, S., Sezen, G. 2013. Chitin extraction and characterization from *Daphnia magna* resting eggs. *International Journal of Biological Macromolecules*, 459–464.
- Kaya, M., Tozak, K. Ö., Baran, T., Sezen, G., ve Sargın, İ., 2013. Natural Porous and Nano Fiber Chitin Structure From Gammarus Argaeus (Gammaridae Crustacea), *EXCLI Journal*, 12, 503-510.
- Kenchington, W. 1976. Adaptation of insect peritrophic membranes to form cocoon fabrics. In: Hepburn HR (ed), *The insect integument*, Amsterdam, Elsevier Science, 497.
- Khor, E. 2001. Chitin, Fulfilling a Biomaterials Promise, Department of Chemistry, National University of Singapore, Republic of Singapore, 135.
- Kittur, F., Prashanth, H., Sankar, K., Tharanathan, R. 2002. *Carbohydr Polym*, 49,185.
- Kumar, R., 2000. A review of chitin and chitosan applications, *Reactive and Functional Polymers*, 46, 1-27.
- Kurita, K., Tomita, K., Tada, T., Ishii, S., Nishimura, S-I., Shimoda, K., 1993. Squid chitin as a potential alternative chitin source: deacetylation behavior and characteristic properties, *J Polym Sci Part A Polym Chem*,31,485–91.
- Kurita, K., 2001. Controlled functionalization of the polysaccharide chitin, *Progress in Polymer Science*, 26, 1921-1971.
- Lavall, R., Assis, O., Campana-Filho, S. 2007. Beta-chitin from the pens of *Loligo* spp., Extraction and characterization, *Bioresource Technol*, 98, 2465–2472.
- Limam, Z., Selmi, S., Sadok, S., Abed, A. 2011. Extraction and characterization of chitin and chitosan from crustacean by-products: Biological and physicochemical properties. *African Journal of Biotechnology*, 10, 4, 640-647.
- Liu, S., Sun, J., Yu, L., Zhang, C., Bi, J., Zhu, F., Qu, M., Jiang, C., Yang, Q., 2012. Extraction and characterization of chitin from the beetle *Holotrichia parallela* Motschulsky, *Molecules*, 17, 4604-4611.
- Li-Qunvu, K., Embree, H., Smith, P., Payne, G.F., 2002.Utilizing renewable resources to create functional polymers:Chitosan-based associative thickener, *Environmental Science and Technology*, 36, 3446-3454.
- Manzi, P., Marconi, S., Aguzzi, A., Pizzoferrato, L. 2004. Commercial mushrooms: nutritional quality and effect of cooking. *Food Chemistry*, 84, 201-206.
- Minke, R., Blackwell, J. 1978. The structure of α -chitin, *J Mol Biol*, 120, 167–81.

- Ong, S.Y., Wu, J., Moochhala, S.M., Tan, M.H., Lu, J. 2008. Development of a chitosan-based wound dressing with improved hemostatic and antimicrobial properties, *Biomaterials*, 29, 4323-4332.
- Rinaudo, M., 2006. Chitin and chitosan: Properties and applications, *Progress in Polymer Science*, 31, 603-632.
- Rudall, K. 1969. Chitin and its association with other molecules, *J Polym Sci Part*, 28, 83-102.
- Rudall, K., Kenchington, W. 1973. The chitin system, *Biol Rev*, 40, 597-636.
- Sajomsang, W., Gonil, P. 2010. Preparation and characterization of α -chitin from cicada sloughs, *Mater. Sci. Eng.*, 30, 357-363.
- Shahidi, F., Arachchi, J., Jeon, Y. 1999. Food applications of chitin and chitosans, *Trends Food Sci. Technol.*, 10, 37-51.
- Shahidi, F., Abuzaytoun, R., 2005. Chitin, chitosan, and co-products: chemistry, production, applications, and health effects, *Adv Food Nutr Res*, 49, 93-135.
- Simpson, B., Gagne, N., Simpson, M. 1994. Bioprocessing of chitin and chitosan. *Fisheries Processing: Biotechnological applications*, (Ed. A.M. Martin) Chapman and Hall, London, 155-203.
- Synowiecki, J., Al-khatteb, A., Nadia, A., 2003. Production, properties, and some new applications of chitin and its derivatives, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43, 145-171.
- Thirunavukkarasu, N., Dhinamala, K., Inbaraj, R. M. 2011. Production of chitin from two marine stomatopods *Oratosquilla spp.* (Crustacea). *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 3, 1, 353-359.
- Tolome, A., Desbrieres, J., Rhazi, M., Alagui, A. 2003. Contribution to the preparation of chitins and chitosans with controlled physico-chemical properties. *Polymer*, 44, 7939-7952.
- Vani, R, Shaleesha, A.,S., 2013. Studies on the extraction of chitin and chitosan from different aquatic organisms. *Adv Bio Tech*, 12, 12, 12-15.
- Vetter, J. 2007. Chitin content of cultivated mushrooms *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* and *Lentinula edodes*, *Food Chemistry*, 102, 6-9.
- Yen, M., Mau, J. 2006. Preparation of fungal chitin and chitosan from shiitake stipes, *Fung. Sci*, 21(1, 2), 1-11.
- Yen, M., Yang, J., Mau, J., 2009. Physicochemical characterization of chitin and chitosan from crab shells, *Carbohydr Polym*, 75, 15-21.
- Youn, D., No, H., Prinyawiwatkul, W. 2007. Physical Characteristics of Decolorized Chitosan as Affected by Sun Drying During Chitosan Preparation, *Carbohydrate Polymers*, 69, 707-712.

Zhang, M., Haga, A., Sekiguchi, H., Hirano, S. 2000. Structure of insect chitin isolated from beetle larva cuticle and silkworm (*Bombyx mori*) pupa exuvia. Int. J. Biol. Macromol., 27, 99-105.

URL-1, Hatunoğlu, R. <http://www.tarimcionline.com/makaleler/misir-ziraati>
01 Ekim 2013

URL-2, Babaoğlu, M. <http://hayrabolutb.org.tr/media/ziraat/Misir-Tarimi-2.pdf>
01 Ekim 2013

URL-3, <http://www.yildizilaclama.com/tarimsal-mucadele-hizmetleri/tarla-bitkileri/95-msr-hastalıkları.html> 01 Ekim 2013

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : ASLI TOPAÇ

Doğum Yılı : 01.08.1989

Eğitim Bilgileri (Kurum ve Yıl)

Lisans : AKSARAY ÜNİVERSİTESİ, FEN EDEBİYAT FAKÜLTESİ,
BİYOLOJİ BÖLÜMÜ, 2012

Yüksek Lisans : AKSARAY ÜNİVERSİTESİ, FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ,
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI, 2014

İletişim Bilgileri

Adres : TAŞPAZAR MAH. 837. SOK. NO:3 KAT:3, AKSARAY

Telefon : 05466469798

E-posta : aslitopac89@hotmail.com